DOI:10.11766/trxb201712180415

不同施肥水稻土可溶性有机氮组分差异及影响因素**[[1]](#footnote-1)\***

杨 静[[2]](#footnote-2) 聂三安2,3 杨文浩1,2 陈成榕4 张黎明1,2 周碧青1,2 邢世和1,2[[3]](#footnote-3)†

(1 福建农林大学资源与环境学院，福州 350002)

（2 土壤生态系统健康与调控福建省高校重点实验室，福州 350002）

（3 福建农林大学生命与科学学院，福州 350002）

（4 *School of Environment and Natural Science, Griffith University, Nathan 4111, Australia*）

可溶性有机氮（Soluble Organic Nitrogen, SON)在研究土壤供氮能力方面至关重要，而目前关于水田生态系统SON组成及其影响因素尚不清楚。运用红外光谱和氨基酸自动分析仪研究了长期 (33年) 不同施肥处理对水稻土SON含量、组分的影响及其主控因子。结果表明：单施化肥、化肥+牛粪、化肥+稻草处理土壤SON较不施肥处理提高23.49%、58.70%和106.30%，游离氨基酸氮提高32.27%、84.42%和95.21%，可溶性蛋白氮提高20.83%、70.00%和95.83%；不同施肥处理土壤游离氨基酸组成均以中性氨基酸占优势；土壤可溶性氮官能团组成均具有酰胺类化合物的红外特征吸收峰；RDA结果表明，土壤SON含量和组成差异明显，CK和NPK处理主要受土壤容重影响，而NPKM和NPKS则主要受有机质、全氮、微生物量氮、蛋白酶和谷氨酰胺酶影响。因此，SON含量和组分变化与施肥处理密切相关，长期添加有机肥能够显著增加土壤SON及其组分的含量，提高土壤供氮潜力。

长期施肥；水稻土；可溶性有机氮；组分；影响因素

S154 **文献标识码**  A

土壤可溶性有机氮 (SON, Soluble Organic Nitrogen) 是土壤氮库中最为活跃的组分[[1](#_ENREF_1)]。一方面SON能够直接被植物根系吸收或在微生物作用下矿化为无机氮而被植物吸收[[2](#_ENREF_2)]，另一方面SON的流动性强，易随降水和流水进入水体从而影响水质，是土壤氮素流失的主要形态之一[[3](#_ENREF_3)]。土壤SON的存在形态及其含量是影响土壤氮素有效性的重要因子[[4](#_ENREF_4)]，也是导致流域水体富营养化的重要成分[[5](#_ENREF_5)]。农田土壤SON的组成较为复杂，以小分子游离氨基酸为主[[6](#_ENREF_6)-[7](#_ENREF_7)]。然而，Murphy等[[1](#_ENREF_1)]认为农田土壤游离氨基酸含量很低，仅占SON的3%，氨基糖和杂环氮化合物占SON的15%，其余为含氨基化合物。可见，目前国内外有关土壤SON组成的研究不多，结论也不尽相同，且由于分析手段的限制，主要集中于小分子氨基酸组分的研究，而对SON其他成分 (尤其是大分子SON) 的研究则少见报道。

在农业生产中，施肥既是提高土壤肥力的重要措施，也是土壤SON的重要来源[[8](#_ENREF_8)]，故施肥必然对土壤SON含量和组成产生不同程度的影响。然而不同种类肥料的成分及理化性质差异显著，故对不同形态有机氮的影响也各异。研究表明长期施用化肥对黑土有机氮组分含量无明显影响，而有机肥配施化肥耕层土壤各形态酸解有机氮含量均有一定提高，以氨基酸态氮增加最为明显[[9](#_ENREF_9)]，对河西灌漠土[[4](#_ENREF_4)]，潮土[[10](#_ENREF_10)]的研究也得出了相似的结果。综上所述，施肥对旱地土壤SON组成具有显著影响，但因土壤类型、利用方式、气候条件等因素的不同呈现出显著差异。由于频繁淹水耕作、干湿交替的环境条件，致使水稻土明显有别于旱地土壤，然而国内外至今对不同施肥处理下水稻土有机氮含量及其组分的研究鲜见报道，有关长期不同施肥处理对水稻土SON及其组分的影响机理尚不清楚。因此，本研究以亚热带地区33年定位试验区为研究对象，分析长期不同施肥处理下黄泥田SON含量和组成变化特征及其差异，探讨产生差异的影响因素，为阐明水田生态系统SON的化学本质和生态功能提供科学依据。

1材料与方法

1.1试验区概况

长期定位试验区位于福建省闽侯县白沙镇 (119°04'10"E，26°13'31"N)，属中亚热带与南亚热带过渡区，夏季高温多雨，年均气温19.5 ℃，年日照时数1 812 h，无霜期约311 d，年均降水量1 350 mm。试验地土壤类型为黄泥田，成土母质为低丘红壤坡积物，定位试验于1983年建立，至今已有33年历史，试验开始时耕层土壤基本性质为：pH 4.9，有机质21.6 g kg-1，碱解氮141.0 mg kg-1，速效磷12.0 mg kg-1，速效钾41.0 mg kg-1。1983—2004年试验地采用双季稻轮作，2005年开始采用单季稻种植，水稻品种每3～4年更换一次，均为当地主栽品种。

1.2试验设计

试验设置不施肥 (CK)、单施化肥 (NPK)、化肥+牛粪 (NPKM)、化肥+稻草 (NPKS) 共4个处理，每个处理重复3次，小区面积为12 m2 (3 m×4 m)，采用随机排列，小区间用水泥埂隔开。3种施肥处理每茬氮、磷和钾施用量均相同，分别为N 103.5 kg hm -2、P2O5 27.0 kg hm -2 和K2O 135.0 kg hm -2。单施化肥处理为施用尿素、过磷酸钙和氯化钾，其中尿素和氯化钾50%作基肥施用、50%作分蘖肥施用，过磷酸钙全部作基肥施用。配施牛粪的有机质、N、P2O5和K2O含量分别为394.2 g kg-1、15.8 g kg -1、8.8 g kg -1和11.7 g kg -1，每茬牛粪施用量 (干基) 为3 750 kg hm -2；配施稻草的有机质、N、P2O5和K2O含量分别为647.4 g kg-1、11.0 g kg -1、3.8 g kg -1和20.4 g kg -1，每茬施用量为上茬稻草全部回田 (多年平均为干重4 500 kg hm -2)；牛粪和稻草全部作基肥施用。

1.3样品采集与分析

2016年7月水稻种植前采用对角线多点采样法采集各处理小区耕层土壤 (0～20 cm) 混合样品，一部分鲜样直接用于SON、相关酶活性和微生物生物量氮 (Microbial Biomass Nitrogen，MBN) 分析，未能及时测定的鲜样置于4℃ (短期) 和-20℃ (长期) 冰箱中恒温保存，另一部分样品在室内风干过筛后用于土壤相关理化性质的测定。土壤理化性质采用土壤农化常规分析方法[[11](#_ENREF_11)]、土壤蛋白酶活性和谷氨酰胺酶分别采用福林比色法和奈氏比色法[[12](#_ENREF_12)]、MBN采用液氯熏蒸浸提—水浴法[[13](#_ENREF_13)]测定；土壤SON采用70℃热水浸提、可溶性总氮 (Total Soluble Nitrogen，TSN) 与可溶性无机氮 (NH4+、NO3-和NO2-，Soluble Inorganic Nitrogen, SIN ) 差减法[[14](#_ENREF_14)]获得，其中TSN和SIN分别采用带有氮检测器的总有机碳分析仪 (日本，Shimadzu CN200) 和连续流动注射分析仪 (意大利，Systea) 测定；土壤游离氨基酸含量和组成均采用茚三酮显色-氨基酸自动分析仪 (英国，Biochrom) 测定[[15](#_ENREF_15)]，具体分析步骤为：取 5 g新鲜土样于50 ml 具塞三角瓶中，加 25 ml 蒸馏水 (土水比为1:5) 置于 70℃恒温水浴中加热浸提18 h后置于振荡机上振荡 5 min，然后用 0.45 μm微孔滤膜过滤。取10 ml的滤液与0.25 g磺基水杨酸去蛋白，以每5 000 r min-1离心5 min，微调节pH至2.2后用0.45 µm滤膜过滤。吸取1 ml滤液于氨基酸自动分析仪测定；土壤可溶性蛋白质采用考马斯亮蓝法测定[[16](#_ENREF_16)]；土壤SON未知组分采用傅里叶红外光谱法测定[[17](#_ENREF_17)]。

**1.4**数据分析

所有分析数据均利用Excel 2013和SPSS 18.0软件处理，SigmaPlot 12.5和Origin 8.0软件作图，不同处理间差异显著性分析采用单因素方差分析 (One-way analysis of variance, ANOVA)，并采用CANOCO 4.5统计软件中的冗余分析方法 (RDA) 探讨不同施肥处理SON含量和组成差异的影响因素。

2结 果

2.1不同施肥处理下土壤SON含量差异

图1结果表明，长期不同施肥处理下供试土壤TSN以SON为主，SON介于23.14～49.80 mg kg-1之间，占土壤TSN的46.16%～62.45%。不同施肥处理耕层土壤SON含量变化趋势为NPKS > NPKM > NPK > CK，与CK相比，施肥处理显著提高耕层土壤SON含量 (*p*<0.05)，NPK、NPKM和NPKS处理分别较CK提高23.49%、58.70%和106.30%；与单施化肥相比，有机无机配施可显著提高土壤SON含量 (*p*<0.05)，NPKS和NPKM处理SON含量分别较NPK处理增加67.06%和28.51%；且以配施稻草对供试土壤SON含量影响更为显著，较配施牛粪高29.99%。可见，在施用等量化肥的前提下，长期化肥配施稻草更有利于土壤SON含量的积累。



注：CK为不施肥处理，NPK为单施化肥，NPKM为化肥+牛粪，NPKS为化肥+全部稻草还田，不同小写字母代表处理间差异显著 (*p*< 0.05, Duncan检验)。下同Note: CK stands for control or no fertilizer, NPK for chemical fertilizer NPK, NPKM for chemical fertilizer + cattle manure and NPKS for chemical fertilizer + straw. The different lowercase letters in the figure mean significant difference between different treatments (*p*< 0.05，Duncan test).The same below

图1 长期不同施肥处理土壤SON含量

Fig.1 Soil SON content in paddy soil under long-term fertilization relative to treatment

2.2不同施肥处理下土壤游离氨基酸氮含量差异

表1可见，长期不同施肥处理下耕层土壤游离氨基酸氮含量差异显著，其含量变化顺序为NPKS > NPKM > NPK > CK。与CK相比，NPK处理游离氨基酸氮增加2.63 mg kg-1 (32.27%)，但差异未达显著水平，NPKS和NPKM处理游离氨基酸氮分别较CK处理增加7.76 mg kg-1 (95.21%) 和6.88 mg kg-1 (84.42%)，分别较NPK处理增加5.13 mg kg-1 (47.59%) 和4.25 mg kg-1 (39.42%)，且差异均达到显著水平。可见，长期不同施肥处理下耕层土壤中游离氨基酸氮在SON组分中的比例各异，NPKM处理所占比例最高，占SON的39.23%，NPK与CK处理次之，分别为占SON的36.16%和33.76%，而NPKS处理的比例最低，仅占SON的31.94%。

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 表1 长期不同施肥处理土壤游离氨基酸氮含量  **Table 1** Soil free amino acids content under long-term different fertilization models | | | | | |
| **Table 1** Soil free amino acid nitrogen content in the paddy soil under long-term fertilization relative to treatment (mg kg-1) | | | | | |
| 氨基酸  Amino acids | | CK | NPK | NPKM | NPKS |
| 中性氨基酸  Neutral amino acids | 肌氨酸Creatine | 0.69±0.052 | 1.57±0.057 | 1.09±0.109 | 1.20±0.012 |
| 磷酸丝氨酸 Serine phosphate | 0.01±0.006 | 0.10±0.029 | 1.04±0.058 | 1.28±0.122 |
| 苏氨酸Threonine | 0.69±0.040 | 0.80±0.046 | 1.05±0.064 | 1.11±0.064 |
| 丝氨酸Serine | 0.62±0.040 | 0.55±0.029 | 1.16±0.092 | 1.34±0.112 |
| 甘氨酸Glycine | 0.66±0.075 | 0.69±0.052 | 2.45±0.017 | 2.50±0.173 |
| 丙氨酸Alanine | 1.03±0.064 | 1.26±0.092 | 1.23±0.013 | 1.37±0.116 |
| 缬氨酸Valine | 0.78±0.058 | 1.14±0.075 | 0.05±0.017 | 0.09±0.023 |
| 胱氨酸Cystine | 0.07±0.035 | 0.02±0.006 | 0.31±0.046 | 0.32±0.040 |
| 蛋氨酸Methionine | 0.13±0.008 | 0.20±0.046 | 0.71±0.075 | 0.73±0.058 |
| 异亮氨酸Isoleucine | 0.35±0.072 | 0.55±0.058 | 1.93±0.144 | 1.87±0.012 |
| 亮氨酸Leucine | 1.00±0.058 | 1.29±0.121 | 0.65±0.087 | 0.59±0.058 |
| 酪氨酸Tyrosine | 0.28±0.046 | 0.36±0.046 | 0.94±0.081 | 0.95±0.104 |
| 苯丙氨酸Phenylalanine | 0.52±0.058 | 0.67±0.058 | 0.14±0.029 | 0.11±0.012 |
| 羟脯氨酸Hydroxyproline | 0.18±0.046 | 0.23±0.046 | 0.57±0.052 | 0.53±0.064 |
| 脯氨酸Proline | 0.37±0.040 | 0.41±0.012 | 0.15±0.029 | 0.17±0.017 |
| 酸性氨基酸  Acidic amino acids | 天冬酰胺Asparagine | 0.51±0.075 | 0.64±0.052 | 0.67±0.075 | 0.69±0.064 |
| 谷氨酸Glutamate | 0.26±0.046 | 0.30±0.052 | 0.55±0.098 | 0.68±0.058 |
| 碱性氨基酸  Basic amino acids | 鸟氨酸Ornithine | / | / | 0.02±0.006 | 0.14±0.012 |
| 赖氨酸Lysine | / | / | 0.14±0.023 | 0.12±0.017 |
| 精氨酸Arginine | / | / | 0.18±0.046 | 0.12±0.012 |
| 氨基酸总量Total amino acids | | 8.15 | 10.78 | 15.03 | 15.91 |
| SON | | 24.14 | 29.81 | 38.31 | 49.80 |
| FAA:SON | | 33.76% | 36.16% | 39.23% | 31.94% |

注：表中数值为平均值±标准差Note: The date in the table are Mean ± SD

从土壤游离氨基酸组成分析来看 (图2)，不同施肥处理下中性氨基酸占游离氨基酸总量的89.00%～91.28%，酸性氨基酸和碱性氨基酸仅分别占游离氨基酸总量的8.12%～9.45%和0～2.39%。各施肥处理土壤游离氨基酸均以苏氨酸、丝氨酸、肌氨酸、甘氨酸、丙氨酸和异亮氨酸为主，与CK相比，除缬氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸和脯氨酸外，长期施肥均在一定程度上提高土壤其他游离氨基酸的含量。可见，长期不同施肥处理下供试土壤游离氨基酸组成均以中性氨基酸占优势，但有机无机配施处理可显著提高土壤酸性和碱性游离氨基酸氮的含量。



图2 长期不同施肥处理土壤游离氨基酸组成

Fig.2 Composition of soil free amino acid in the paddy soil under long-term fertilization relative to treatment

2.3不同施肥处理下土壤可溶性蛋白氮含量差异

图3结果表明，长期不同施肥处理下土壤可溶性蛋白质含量变化介于7.49～14.69 mg kg-1，可溶性蛋白氮含量介于1.20～2.35 mg kg-1，占土壤SON的4.72%～5.32%。不同施肥处理下土壤可溶性蛋白氮含量具体表现为NPKS > NPKM > NPK > CK，NPKS和NPKM处理土壤可溶性蛋白氮均显著高于CK及NPK处理，增幅分别为95.83%和70.00%及60.07%和40.69%，与CK处理相比，NPK 处理土壤可溶性蛋白氮含量增加了0.25 mg kg-1 (20.83%)，但差异未达到显著水平。可见，有机无机配施可显著提高土壤可溶性蛋白氮含量，尤其是NPKS处理。



图3 长期不同施肥处理土壤可溶性蛋白氮含量

Fig.3 Soil soluble protein nitrogen content in the paddy soil under long-term fertilization relative to treatment

2.4不同施肥处理下土壤SON其他组分含量差异

图4可见，长期不同施肥处理下耕层土壤SON提取液的红外光谱基本相似，均在3 400 cm-1 (碳水化合物、羧酸、酚类、醇类等的-OH伸缩振动，以及酰胺类官能团的N-H伸缩振动)、1 630～1 650 cm-1 (木质素中与芳香环相连的C=O伸缩振动及酰胺类化合物C=O伸缩振动，即酰胺I吸收带)、1 400～1 460 cm-1 (木质素、脂肪族化合物及C-N伸缩振动，即酰胺III吸收带)、1 310 cm-1 (含有NH4+成分的复合物、C2N伸缩振动)、1 000～1 100 cm-1 (Si-O伸缩振动，C-O伸缩振动，碳水化合物或多糖)[[17](#_ENREF_17)] 等附近出现明显的吸收峰，但不同施肥处理下在某些特征吸收峰和强度上存在一定差异，表明长期不同施肥处理下土壤中SON的组成和含量具有一定的差别。就特征吸收峰而言，NPK、NPKM和NPKS处理在2 925～2 975 cm-1 出现显著的肩峰 (脂肪族和脂环族中-CH3、-CH2-的伸缩振动)，且在1 587 cm-1附近出现一个较弱的特征峰 (-NH弯曲振动，即酰胺II吸收带)，而CK处理则在1 380 cm-1 (COO-伸展、酚的-OH变形和C-O伸缩振动) 出现显著的特征峰。通过重点比较3 400 cm-1，1 640 cm-1，1 460 cm-1，1 310 cm-1附近吸收峰的强度变化发现 (图4和表2)，与CK处理相比，NPK、NPKM和NPKS处理上述吸收峰的相对强度均有一定提高，说明施肥能够提高土壤中氨基酸、蛋白质、NH4+及C2N等含氮化合物的含量。不同处理的3 400 cm-1、1 640 cm-1、1 460 cm-1吸收峰相对强度均呈现出NPKS > NPKM > NPK > CK，而1 310 cm-1吸收峰则表现为NPKM > NPKS > NPK > CK。可见，不同施肥处理土壤SON库主要以酰胺类化合物存在，且NPKM处理所增加的氮主要为小分子易矿化氮，而NPKS处理所增加氮主要为大分子未知氮。



图4 长期不同施肥处理土壤可溶性氮库红外光谱图

Fig.4 FTIR of soil soluble nitrogen pool in the paddy soil under long-term fertilization relative to treatment

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 表2 不同施肥处理土壤氮组分红外光谱特征峰相对强度  **Table 2** Relative intensity of the major FTIR absorption peaks of the paddy soil under long-term fertilization relative to treatment | | | | |
| 处理Treatment | 3 400 cm-1 | 1 640 cm-1 | 1 460 cm-1 | 1 310 cm-1 |
| CK | 34.57 | 3.93 | 0.53 | 0.05 |
| NPK | 43.30 | 5.81 | 2.59 | 0.09 |
| NPKM | 46.27 | 12.01 | 2.66 | 0.13 |
| NPKS | 51.15 | 15.93 | 3.56 | 0.10 |

2.5不同施肥处理下耕层土壤SON差异的影响因子

利用不同施肥处理耕层土壤SON含量及其可能影响因子的分析数据 (表3) 进行冗余排序分析，结果表明 (图5)，在RDA1 (图5a) 中第一排序轴和第二排序轴分别解释了SON含量变异的94.2%和2.8%，累积解释信息量达97.0%，说明前两轴能够很好地反映土壤SON含量与影响因子的关系，并主要由第一排序轴决定。在9个土壤影响因子中，全氮与第一排序轴呈最大正相关 (r=0.948)，其次为谷氨酰胺酶 (r=0.917)、蛋白酶 (r=0.899)、MBN (r=0.871) 和有机质 (r=0.840)。容重与第一排序轴呈最大负相关，相关系数为-0.806，说明不同施肥处理土壤SON含量主要受土壤全氮、谷氨酰胺酶、蛋白酶、MBN、有机质和容重的影响。在RDA2 (图5b) 中第一排序轴和第二排序轴分别解释了所有信息的92.1%和4.2%，所选的环境变量累计解释了96.3%的土壤SON组成变异。不同施肥处理下土壤SON组成的土壤影响因子与SON含量类似，但影响程度具有一定的差异。其中全氮与第一轴的关系最为密切 (相关系数为0.935)，其次为蛋白酶、有机质、谷氨酰胺酶和MBN，相关系数分别为0.805、0.800、0.769和0.719。容重与第一排序轴呈最大负相关，相关系数为-0.815，说明不同施肥处理下SON各组分的含量变化与有机质、全氮、MBN、蛋白酶和谷氨酰胺酶呈正相关，与容重呈负相关。根据样本与理化因子垂直交点到箭头的距离可知容重对不同施肥处理土壤SON含量和组成的影响大小排序为CK > NPK > NPKM > NPKS,而有机质、全氮、MBN、蛋白酶和谷氨酰胺酶对不同施肥处理土壤SON含量和组成的影响大小排序则表现为NPKS > NPKM > NPK > CK。因此，不同施肥处理间土壤SON含量和组分差异明显，CK和NPK处理主要受土壤容重的影响，而NPKM和NPKS主要受有机质、全氮、MBN、蛋白酶和谷氨酰胺酶的影响。

表3 长期不同施肥处理土壤理化性质

**Table 3** Soil physical and chemical properties of the paddy soil under long-term fertilization relative to treatment

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 处理Treatments | 容重  Bulk density (g cm-3) | 比重Proportion | 通气孔隙Aeration  pore (%) | pH | 有机质Organic matter  (g kg-1) |
| CK | 1.18a | 2.49a | 9.0%a | 5.30a | 25.90c |
| NPK | 1.09b | 2.51a | 11.0%a | 5.28a | 30.23bc |
| NPKM | 1.02b | 2.48a | 12.0%a | 5.22a | 37.13a |
| NPKS | 1.02b | 2.48a | 11.0%a | 5.40a | 34.90ab |
| 处理Treatments | 全氮  Total nitrogen (g kg-1) | 碳氮比C/N | 微生物生物量氮Microbial biomass nitrogen( mg kg-1) | 蛋白酶Protease  (ug g-1 h-1) | 谷氨酰胺酶Glutaminase  (mg g-1 d-1) |
| CK | 0.74d | 11.91a | 47.81c | 10.72c | 49.16c |
| NPK | 0.82c | 11.65bc | 56.61b | 12.36bc | 52.42bc |
| NPKM | 0.96b | 11.06c | 57.57b | 15.43ab | 53.86b |
| NPKS | 1.01a | 10.86c | 67.07a | 18.71a | 60.90a |

注：不同小写字母代表不同处理间的差异显著 (*p*< 0.05, Duncan检验) Note: the different lowercase letters on the maximum line mean significant different between different treatment (*p*< 0.05, Duncan test)



**b**



**a**

注：圆圈：不同施肥处理土壤SON含量 (a)和SON各组分含量 (b)；实线箭头：土壤理化因子；圆圈与实线箭头的夹角：不同处理SON含量及其组分与土壤理化因子的相关性；圆圈与实线的垂直交点到箭头的距离代表相关程度。Note: Circle: SON content (a) and contents of SON components (b) relative to fertilization treatment. Solid arrow: soil physicochemical factors; The angle between circle and solid arrow: correlation between the content of SON or contents of its components and the soil physicochemical factors; The distance from the vertical intersection between the circle and the solid line to the arrow indicates the significance level of the correlation

图5 长期不同施肥处理土壤理化性质与SON含量(a)及组分(b)的RDA排序图

**Fig.5** RDA ordination of soil physicochemical properties and SON content (a) and components (b) in the paddy soil under long-term fertilization relative to treatment

3讨 论

3.1长期不同施肥处理对土壤SON含量的影响

土壤SON是土壤氮库中最活跃的组分之一，其含量的变化对土壤氮素的转化、供应和迁移具有显著影响。本研究表明四种长期不同施肥处理下耕层土壤SON含量占土壤TSN的46.16%～62.45%，是土壤可溶性氮库的重要组成成分。长期施肥显著地提高土壤SON含量，单施化肥处理 (NPK) 土壤SON含量提高了23.49%，这是因为化肥施入土壤后在生物因素 (土壤微生物量、酶活性等) 的作用下从无机氮素向有机氮素转化的结果[[18](#_ENREF_18)]，然而无机氮施入土壤后易被水稻所吸收，且常通过硝化和反硝化等各种途径损失，导致单施化肥处理对SON的贡献率低于配施有机肥处理。与不施肥处理 (CK) 和单施化肥处理 (NPK) 相比，有机无机肥配施处理 (NPKM、NPKS) 土壤SON含量显著提高，NPKM处理SON含量提高了58.70%和28.51%，NPKS处理SON含量提高了106.30%和67.06%，究其原因一方面是由于长期配施牛粪、秸秆等有机肥，为供试土壤持续提供外源有机质 (33年来每年均分别输入1 478kg hm-2和2 913 kg hm-2的外源有机质)，提高了土壤微生物的生物量、蛋白酶和谷氨酰胺酶活性，化肥配施牛粪以及秸秆处理的土壤MBN、蛋白酶和谷氨酰胺酶活性分别比单施化肥处理提高1.70%和18.48%、24.84%和51.38%及2.65%和11.91% (表3)，从而促进大分子有机质的分解与无机氮向SON的转化[[19](#_ENREF_19)]；另一方面是由于有机肥自身含有小分子有机物，施入土壤后不仅快速地增加土壤SON含量，还有利于水稻的生长，促进根系分泌物的增加，从而刺激微生物的生长[[20](#_ENREF_20)]。此外，长期施用有机肥可使土壤疏松多孔，容重降低，通透性提高 (表3)，进而提高有机氮的矿化率，有利于SON的形成[[21](#_ENREF_21)]。本研究结果亦显示，不同有机物料配施对土壤SON含量的影响不同，表现为NPKS>NPKM，其原因一方面是由于NPKS处理的年有机质输入量是NPKM的1.97倍，较高的有机质输入促进了土壤全氮、蛋白酶、谷氨酰胺酶及MBN的提高 (表3)，从而有利于SON的形成 (图5)；另一方面是由于施用的有机物料组成成分及其分解速率不同所致，研究表明牛粪中含有大量氨基酸、脂肪酸、多糖等易矿化小分子化合物[[22](#_ENREF_22)]，而水稻秸秆的组成主要为纤维素、半纤维素和木质素，含量分别为34.62%～41.50%、18.00%～21.39%和9.27%～17.70%[[23](#_ENREF_23)-[24](#_ENREF_24)]，这些成分相对较难矿化，分解速率较慢[[25](#_ENREF_25)]，回田120 d时水稻秸秆的腐解量仅为26.76%～54.58%[[26](#_ENREF_26)]，故NPKS处理中还有相当数量上年输入的有机物料滞留于土壤，导致该处理次年的外源有机质数量相对提高，从而增加SON的形成。因此，外源无机氮以及牛粪和稻草等有机肥的输入，较显著地提高供试土壤的SON含量和氮素的供给能力，促进水稻的生长发育和产量的提高，致使长期单施化肥、化肥+牛粪和化肥+稻草处理的水稻产量分别较对照处理提高21.58%、39.11%和36.66%，化肥+牛粪和化肥+稻草处理的水稻产量分别较单施化肥处理提高14.42%和12.40% (表4)，但由于水稻对SON的直接吸收能力高低及其机理至今尚不清楚，故不同施肥处理土壤SON含量的提高对水稻产量的直接贡献及其差异尚有待于进一步深入研究。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 表4 长期不同施肥处理水稻产量  **Table 4** Rice yield under long-term fertilization relative to treatment | | | | |
| 处理Treatments | I  （kg hm-2） | II  （kg hm-2） | III  （kg hm-2） | 稻谷平均产量Average yield of rice  （kg hm-2） |
| CK | 5 599 | 5 629 | 5 244 | 5 491Cc |
| NPK | 6 976 | 6 471 | 6 583 | 6 677Bb |
| NPKM | 7 897 | 7 464 | 7 555 | 7 639Aa |
| NPKS | 7 518 | 7 572 | 7 423 | 7 504Aa |

注：表中罗马数字 （I,II,III）代表同一处理的3个重复，不同小写字母代表不同处理间的差异显著 (*p*< 0.05, Duncan检验) Note: The Roman numerical figures (I, II and III) in the table represent three replicates of the same treatment, and the different lowercase letters on the maximum line mean significant difference between different treatment (*p*< 0.05, Duncan test)

3.2长期不同施肥处理对土壤SON组分的影响

长期不同施肥对土壤SON的组分含量影响深刻，影响程度因施肥处理而异。本研究结果表明，游离氨基酸氮和可溶性蛋白氮共占SON的36.66%～44.55%，是SON中重要的组成成分。不同施肥处理间土壤游离氨基酸氮和可溶性蛋白氮含量差异表现为NPKS > NPKM > NPK > CK，与SON含量差异一致，说明氮肥的施入 (包括化肥和有机肥) 导致土壤SON、游离氨基酸和可溶性蛋白氮含量同步增加。主要与微生物对有机质进行分解过程中的代谢有关，即氮肥的施入提供丰富的能源物质，从而增加微生物的活性，土壤微生物分解有机物质与合成土壤腐殖质过程中，导致土壤SON总量和易矿化有机态氮的增加[[27](#_ENREF_27)]。土壤SON是土壤有机质在微生物作用下的产物，因此土壤SON组分必然受土壤有机质含量、微生物量、相关酶活性及土壤本身理化性质的影响，本研究结果表明水田土壤中各类游离氨基酸和可溶性蛋白含量变化与土壤有机质、全氮、MBN、蛋白酶和谷氨酰胺酶呈正相关，与容重呈负相关 (图5a，图5b)。土壤有机质含量越高，微生物底物和酶促基质含量越高，使得MBN、蛋白酶和谷氨酰胺酶酶活性也越高，从而促进有机氮分解成易矿化小分子游离氨基酸氮和可溶性蛋白氮，因此施肥尤其是施用有机肥对增加水田土壤中易矿化有机氮库具有重要作用。

长期不同施肥处理土壤SON中的游离氨基酸总含量及其各组分的差异显著 (图3)。本研究表明不同施肥处理土壤游离氨基酸含量具有较大的差异，对SON的贡献率也不同，NPKM处理的贡献最高 (39.23%)，NPK (36.16%) 与CK (33.76%) 处理次之，NPKS处理最低 (31.94%)，这是因为不同施肥处理下土壤氨基酸生产速率不同，秸秆中含有大量的单宁、多酚等分解及其矿化率非常缓慢的大分子化合物，且进入土壤的多酚和单宁也极易与蛋白质结合，从而使蛋白质的分解速率降低[[28](#_ENREF_28)]。长期不同施肥处理下各处理耕层土壤中均呈现出中性氨基酸 > 酸性氨基酸 > 碱性氨基酸，这与林地、茶园土壤游离氨基酸的研究结果一致[6,15]，主要是因为中性氨基酸种类多，所以其含量高于另外两类氨基酸，而碱性氨基酸的化学稳定性较低，容易发生降解，因此在氨基酸组成中占的比例较低[[29](#_ENREF_29)]。

长期不同施肥处理土壤氮库组成相似，但各组分间含量具有一定的差异，NPKM处理所增加的氮主要为小分子易矿化氮，而NPKS处理所增加氮主要为大分子的未知氮 (图4)。不同有机肥配施化肥对土壤有机氮组分差异特征的影响机制可能有以下途径：(1)有机物料自身所含的养分差异直接导致土壤SON组分差异。牛粪中含有大量的水溶性小分子有机化合物(氨基酸、脂肪酸、多糖等)[[22](#_ENREF_22)]，施入土壤后通过微生物的固定直接影响土壤中SON的组分，因此NPKM处理显著地提高了土壤氨基酸、多肽、蛋白质含量，但对土壤大分子含氮化合物没有明显影响。而水稻秸秆中木质素、纤维素、半纤维素等难矿化大分子化合物含量高[[30](#_ENREF_30)]，施入土壤后主要提高大分子有机质含量。（2）有机物料的C/N差异，通过影响土壤微生物的矿化固定作用从而改变土壤SON组分。水稻秸秆C/N较高，微生物的生长受氮限制，矿化出的氮被微生物迅速固定，因此MBN含量较高，而C/N较低的牛粪，施入土壤后微生物生长主要受碳限制，无机氮同化量较少，因此1 310 cm-1的特征峰相对强度较大 (表2)。

4结 论

长期不同施肥处理下水田土壤SON含量占土壤TSN的46.16%～62.45%，是水田土壤可溶性氮库的重要组成成分，不同施肥处理耕层土壤SON含量的变化趋势表现为NPKS > NPKM > NPK > CK。施肥显著提高土壤SON各组分含量（包括游离氨基酸氮、可溶性蛋白氮和酰胺类氮），SON中酰胺类未知有机氮组成有待于进一步研究确定。不同有机肥配施化肥对SON组分的贡献率不同，牛粪与化肥配施增加的有机氮以小分子SON为主，而水稻秸秆与化肥配施增加的有机氮则以大分子SON为主。长期不同施肥处理下水田土壤SON含量及其组分与土壤全氮、谷氨酰胺酶、蛋白酶、MBN、有机质呈正相关，而与容重呈负相关。

参 考 文 献

[1]Murphy D V, Macdonald A J, Stockdale E A, et al. Soluble organic nitrogen in agricultural soils. Biology and Fertility of Soils, 2000, 37: 374–387

[2]周碧青, 陈成榕, 杨文浩, 等. 茶树对可溶性有机和无机态氮的吸收与运转特性.植物营养与肥料学报, 2017,23(1): 189-195

Zhou B Q, Chen C R, Yang W H, et al. Uptake and transport characteristics of soluble organic and inorganic nitrogen by tea plant (In Chinese). Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2017,23(1): 189-195

[3]Quan Z, Lu C, Shi Y, et al. Manure increase the leaching risk of soil extractable organic nitrogen in intensively irrigated greenhouse vegetable cropping systems. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science, 2014, 65(3): 199-207

[4]王克鹏, 张仁陟, 索东让. 长期施肥对河西灌漠土有机氮组分及剖面分布的影响.土壤通报, 2009,40(5): 1092-1097

Wang K P, Zhang R Z, Suo D R. Effects of long-term fertilization on forms and profile distribution of soil organic nitrogen in irrigated desert soil (In Chinese). Chinese Journal of Soil Science, 2009,40(5): 1092-1097

[5]Perakis S, Hedin L. Nitrogen loss from unpolluted south american forests mainly via dissolved organic compounds. Nature, 2002, 415: 416-419

[6]Holst J, Brackin R, Robinson N, et al. Soluble inorganic and organic nitrogen in two australian soils under sugarcane cultivation. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2012, 155(Supplement C): 16-26

[7]周碧青, 陈成榕, 张黎明, 等. 茶树品种对亚热带茶园土壤可溶性有机氮组成的影响. 农业环境科学学报, 2015,34(6): 1158-1165

Zhou B Q, Chen C R, Zhang L M, et al. Effects of tea genotypes on soil soluble organic nitrogen compositions in subtropical tea plantations (In Chinese). Journal of Agro-Environment Science, 2015,34(6): 1158-1165

[8]刘春增, 常单娜, 李本银, 等. 种植翻压紫云英配施化肥对稻田土壤活性有机碳氮的影响. 土壤学报, 2017,54(3): 657-669

Liu C Z, Chang D N, Li B Y, et al. Effects of planting and incorporation of Chinese Milk Vetch coupled with application of chemical fertilizer on active organic carbon and nitrogen in paddy soil (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2017,54(3): 657-669

[9]郝小雨, 马星竹, 高中超, 等. 长期施肥下黑土活性氮和有机氮组分变化特征. 中国农业科学, 2015,48(23): 4707-4716

Hao X Y, Ma X Z, Gao Z C, et al. Variation characteristics of fractions of active nitrogen and organic nitrogen under different long-term fertilization practices in black soil (In Chinese). Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(23): 4707-4716

[10]肖伟伟, 范晓晖, 杨林章, 等. 长期定位施肥对潮土有机氮组分和有机碳的影响.土壤学报, 2009,46(2): 274-280

Xiao W W, Fan X H, Yang L Z, et al. Effects of long-term fertilization organic nitrogen fractions and organic carbon in Fluvo-aquic soil (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2009,46(2): 274-280

[11]鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2000

Lu R K. Analytical methods for soil and agro-chemistry (In Chinese). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000

[12]关松荫. 土壤酶及其研究法.北京:农业出版社, 1986

Guan S Y. Soil enzyme and its research method (In Chinese). Beijing: Agriculture Press, 1986

[13]陈果, 刘岳燕, 姚槐应, 等. 一种测定淹水土壤中微生物生物量碳的方法:液氯熏蒸浸提—水浴法. 土壤学报, 2006, 43(6): 981-988

Chen G, Liu Y Y, Yao H Y, et al. A method for measuring microbial biomass C in waterlogged soil: Chloroform fumigation extraction - water bath method (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2006, 43(6): 981-988

[14]Chen C R, Xu Z H, Zhang S L, et al. Soluble organic nitrogen pools in forest soils of subtropical Australia. Plant and Soil, 2005, 277(1/2): 285-297

[15]郭新春, 曹裕松, 邢世和. 闽北3种人工林土壤游离氨基酸组成及其差异研究.江西师范大学学报(自然科学版), 2013,37(3): 310-315

Guo X C, Cao Y S, Xing S H. Composition of soil free amino acid and its difference in three forest plantations in North Fujian (In Chinese). Journal of Jiangxi Normal University(Natural Sciences Edition), 2013, 37(3):310-315

[16]Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1): 248-254

[17]曹莹菲, 张红, 赵聪, 等. 秸秆腐解过程中结构的变化特征. 农业环境科学学报, 2016,35(5): 976-984 Cao Y F, Zhang H, Zhao C, et al. Changes of organic structures of crop residues during decomposition (In Chinese). Journal of Agro-Environment Science, 2016, 35(5): 976-984

[18]张宏威, 康凌云, 梁斌, 等. 长期大量施肥增加设施菜田土壤可溶性有机氮淋溶风险. 农业工程学报, 2013,29(21): 99-107

Zhang H W, Kang L Y, Liang B, et al. Long-term heavy fertilization increases leaching risk of soil soluble organic nitrogen in vegetable greenhouse (In Chinese). Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2013, 29(21): 99-107

[19]Geisseler D, Horwath W R, Joergensen R G, et al. Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms – A review. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(12): 2058-2067

[20]井大炜, 邢尚军. 鸡粪与化肥不同配比对杨树苗根际土壤酶和微生物量碳、氮变化的影响. 植物营养与肥料学报, 2013,19(2): 455-461

Jing D W, Xing S J. Effects of chicken manure mixed with inorganic fertilizer on soil enzyme activities, microbial biomass C and N at rhizosphere of poplar seedlings (In Chinese). Plant Nutrition and Fertilizer Science. 2013,19(2): 455-461

[21]陈玉真, 王峰, 尤志明, 等.不同类型茶园土壤氮素矿化特性及其与土壤性质的关系.福建农业学报, 2015(7): 679-684

Chen Y Z, Wang F, You Z M, et al. Correlation between nitrogen mineralization and properties of various types of soils at tea plantations (In Chinese). Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2015(7): 679-684

[22]吴景贵, 吕岩, 王明辉, 等. 有机肥腐解过程的红外光谱研究.植物营养与肥料学报, 2004,10(3): 259-266

Wu J G, Lü Y, Wang M H, et al. Study on decomposition of organic fertilizers by FTIR (In Chinese). Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2004,10(3): 259-266

[23]黄茜, 黄凤洪, 江木兰, 等. 木质素降解菌的筛选及混合菌发酵降解秸秆的研究. 中国生物工程杂志, 2008(2): 66-70

Huang Q，Huang F H, Jiang M L, et al. The selsction of lignin-degrading fungus and the straw fermentation by mixed strains (In Chinese). China Biotechnology, 2008(2): 66-70

[24]孙万里, 陶文沂. 木质素与半纤维素对稻草秸秆酶解的影响. 食品与生物技术学报, 2010(1): 18-22

Sun W L, Tao W Y. Effect of lignin and hemicellulose on enzymatic hydrolysis of cellulose from rice straw (In Chinese). Journal of Food Science and Biotechnology, 2010(1): 18-22

[25]Angelidaki I, Ahring B K. Methods for increasing the biogas potential from the recalcitrant organic matter contained in manure. Water Science & Technology, 2000, 41(3): 189-194

[26]胡宏祥, 马中文, 邵致远. 还田秸秆腐解特征研究. 湖南农业科学, 2012(5): 44-46

Hu H X, Ma Z W, Shao Z Y. Decomposition characteristics of returned straw (In Chinese). Hunan Agricultural Sciences, 2012(5): 44-46

[27]张电学, 韩志卿, 吴素霞, 等. 不同施肥制度对褐土有机氮及其组分的影响.华北农学报, 2017(3): 201-206

Zhang D X, Han Z Q, Wu S X, et al. Effect of different fertilization regimes on organic nitrogen and its fractions in cinnamon soil (In Chinese). Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2017(3): 201-206

[28]Kraus T E C, Yu Z, Preston C M, et al. Linking chemical reactivity and protein precipitation to structural characteristics of foliar tannins. Journal of Chemical Ecology, 2003, 29(3): 703-730

[29]王星, 崔晓阳, 郭亚芬. 寒温带林区不同林型土壤中游离氨基酸的研究. 南京林业大学学报(自然科学版), 2016(4): 42-48

Wang X, Cui X Y, Guo Y F. A study on free amino acid in different forest types soil of cold-temperate forest region (In Chinese). Journal of Nanjing Forestry University(Natural Sciences Edition), 2016(4): 42-48

[30]李传友, 郝东生, 杨立国, 等. 水稻小麦秸秆成分近红外光谱快速分析研究. 中国农学通报, 2014,30(20): 133-140

Li C Y, Hao D S, Yang L G, et al. Rapid analysis of rice and wheat straw components by near-infrared spectroscopy (In Chinese). Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014,30(20): 133-140

**Effects of Various Influencing Factors of Soil Soluble Organic Nitrogen**

**Components  under Different Long-term Fertilization Treatments in Paddy Soil**

YANG Jing1 NIE Sanan2,3 YANG Wenhao1,2 CHEN Chengrong4 ZHANG Liming1,2 ZHOU Biqing1,2 XING Shihe1,2[[4]](#footnote-4)†

(1 *College of Resources and Environment, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou* 350002, *China*)

(2 *Fujian Provincial Key Laboratory of Soil Ecosystem Health and Regulation, Fuzhou* 350002, *China*)

（3 *College of Life Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou* 350002, *China*）

（4 *School of Environment and Natural Science, Griffith University, Nathan 4111, Australia*）

**Abstract** 【Objective】 This paper was oriented to study changes in content and composition of soil soluble organic nitrogen (SON) and their influencing factors in paddy field under long-term fertilization varying in scheme, in an attempt to provide certain scientific bases for revealing chemical essence and ecological functions of SON in paddy soil and rationalizing fertilization schemes. 【Method】A 33-year long-term fertilization experiment, designed to have four treatments: CK (no fertilizer), NPK (chemical fertilizer), NPKM (chemical fertilizer + cattle manure) and NPKS (chemical fertilizer + straw) was selected as object of the study. With the aid of automatic amino acid analysis and Fourier infrared spectrum analyzer coupled with redundancy analysis (RDA) method, effects of the long-term fertilization treatments on content and composition of SON and main influencing factors in the paddy soil were explored. Soil SON was extracted with hot water. Portions of soil samples from the treatments, 5.0 g each, were put into flasks with stopper, separately, with 25 ml of deionized water each, incubated at 70 oC for 18 h, shaken for 5 min on a shaker, and filtered through a 0.45 um filter membrane. The extracts were analyzed for total soluble N (TSN) with the high-temperature catalytic oxidation method and a TOC analyzer (Shimadzu, Japan) and for concentrations of soil inorganic nitrogen (SIN) (NH4+–N, NO3-–N and NO2-–N) with a continuous-flow analyzer (Systea, Italy). The concentration of SON was calculated as the difference between TSN and the sum of SIN in the extracts. 【Result】Long-term fertilization significantly affected content and composition of the SON in the paddy soil relative to treatment. SON in the treatments accounted for 46.16%～62.45% of the TSN in the paddy soil under the long-term fertilization , making up an important component of the soil soluble nitrogen storage in the paddy field. The content of soil SON in Treatment NPK, NPKM and NPKS was 23.49%, 58.70% and 106.30% respectively higher than that in CK, which indicates that Treatment NPKS, long-term application of chemical fertilizer plus straw is more conducive to accumulation of SON in the paddy soil under the premise that the same amount of NPK is applied. The content of free amino acid nitrogen in Treatment NPK, NPKM and NPKS was 32.27%, 84.42% and 95.21% respectively higher than that in CK, accounting for 31.94%～39.23% of that of the total SON, separately. The free amino acids in the treatment exhibited a decreasing order of neutral amino acids > acidic amino acids > basic amino acids in content, and were dominantly composed of threonine, serine, sarcosine, glycine, alanine and isoleucine. The contents of acidic and basic free amino acid nitrogen were significantly increased in Treatments NPKM and NPKS. The content of soluble protein nitrogen in Treatment NPK, NPKM and NPKS was 20.83%, 70.00% and 95.83% respectively higher than that in CK, accounting for 4.72%～5.32% of that of the total SON, separately, which indicates that application of chemical fertilizer in combination with organic manure or straw, especially Treatment NPKS, can significantly increase the content of soil soluble protein nitrogen. Functional groups of the soil soluble nitrogen in Treatments NPKM and NPKS, especially in the latter, are reflected as amide compound featured infrared absorption peak at 3 400, 1 630～1 650, 1 400～1 460 and 1 310 cm-1 along the spectrum. RDA results show that SON varied significantly with treatment in content and composition. SON in Treatments CK and NPK was mainly affected by soil bulk density, while that in Treatments NPKM and NPKS was by organic matter, total nitrogen, microbial biomass nitrogen, protease and glutaminase.【Conclusion】 SON is closely related to fertilization treatment in content and composition, and addition of organic manure can significantly increase the contents of soil SON, acid and alkaline free amino acids and soluble protein nitrogen. The increased SON in Treatments NPKM and NPKS is mainly small molecule easily mineralized nitrogen and large molecule nitrogen of unknown forms. Free amino acids, amides and soluble proteins are the main components of SON in paddy soil. Bulk density, organic matter, total nitrogen, microbial biomass nitrogen, protease and glutaminase are the main factors affecting content and composition of SON in paddy field, but vary in degree with treatment.

Long-term fertilization; Paddy soil; Soluble organic nitrogen; Composition; Influencing factors

（责任编辑：檀满枝）

1. \*国家自然基金项目 (41671490) 和福建农林大学国际合作项目 (KXB16016A) 资助Supported by the National Natural Science Foundation of China (41671490)and the International Cooperative Research Program at Fujian Agriculture and Forestry University (No.KXB16016A) [↑](#footnote-ref-1)
2. †通讯作者Corresponding author， E-mail：[fafuxsh@126.com](mailto:fafuxsh@126.com)

   作者简介：[yangjing\_0305@163.com](mailto:longjun608@163.com)

   2017-12-18；2018-02-11；优先数字出版日期（[www.cnki.net](http://www.cnkinet)）：2018-03- [↑](#footnote-ref-2)
3. [↑](#footnote-ref-3)
4. [↑](#footnote-ref-4)